Über Ammoniakbildung durch aerobe und anaerobe Mikroorganismen des Düngers und des Bodens.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen philosophischen Fakultät

der

Universität Leipzig

vorgelegt von

Walter Stern

aus Potsdam.

ACAD. LIBR. BAT. KIEL.

Leipzig
Druck von August Hoffmann
1910

Angenommen von der mathematisch-naturwissenschaftlichen Sektion auf Grund der Gutachten der Herren

Kirchner und Pfeffer.

Leipzig, den 25. Februar 1910.

Der Procancellar:
K. Rohn.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit und Verehrung

Vorliegende Arbeit wurde im bakteriologischen Laboratorium des Landwirtschaftlichen Instituts der Universität Leipzig ausgeführt. — An dieser Stelle möchte ich es nicht unterlassen, meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Geh. Hofrat Prof. Dr. Kirchner, sowie Herrn Privatdozenten Dr. Löhnis, auf dessen Anregung hin diese Arbeit entstanden ist, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546804_0094

Inhalt.

	Seite
I. Einleitung	9—10
II. Untersuchungsmethoden	10—16
III. Ergebnisse der Umsetzungsversuche	17—37
1. Allgemeiner Überblick über den Verlauf der Versuche	17—19
2. Destillationsversuche	19
A. Versuche bei vollem Luftzutritt	20—31
a) Rohkulturen	20—25
α) Versuche mit Erde als Impfmaterial	20—23
β) Versuche mit Stalldünger als Impfmaterial	23—25
b) Reinkulturen	25—31
B. Versuche bei Luftabschluß	31—37
a) Rohkulturen	32—35
b) Reinkulturen	35—37
IV. Folgerungen aus den Versuchen und einige Bemerkungen über die Leistungen symbiotischer und enantiobiotischer Mikrobengemische	37—38
V. Zusammenfassung und Schluß	39—40
VI. Anhang: Tabellen	40—48

I. Einleitung.

Die im Erdboden stattfindenden Umsetzungen werden nur zu einem Teile durch chemische und physikalische Vorgänge hervorgerufen. Weit zahlreicher und von besonderer Wichtigkeit in landwirtschaftlicher Hinsicht sind die Prozesse biologischer Art, so daß man hier mit Moll[1]) treffend von einer Physiologie des Bodens reden kann. Namentlich die Mineralisierung der stickstoffhaltigen Düngemittel ist ein fast rein biologischer Vorgang. Wie man im Laboratorium durch Einwirkung von physikalischen und chemischen Hilfsmitteln den Stickstoff des Eiweißes über Amidosäuren, Harnstoff usw. zum Ammoniak abbauen und von da in Salpetersäure überführen kann, in derselben Reihenfolge geschieht der biologische Abbau des Eiweißes in der Natur durch Assimilations- und Dissimilationsprozesse der Mikroorganismen. Wo Bakterien im Boden fehlen, findet auch kein Eiweißabbau statt. Ich führe hier nur die Arbeiten von Müntz[2]) und Coudon an, die mit Evidenz beweisen, daß im sterilen Boden keine Ammoniakbildung stattfinden kann. Über die beim Abbau stickstoffhaltiger Düngemittel beteiligten Bakterienspezies liegt natürlich der Wichtigkeit dieser Frage entsprechend eine große Literatur vor. Von den verschiedensten Gesichtspunkten aus ist diese Frage beleuchtet worden. Im wesentlichen kann man zwei Richtungen unter-

---

[1]) Moll, Diss. phil., Leipzig, 1909, p. 9, III.

[2]) Müntz, Compt. rend. de Paris. **110,** 1890, p. 1206. Müntz & Coudon, Compt. rend. . . . **116,** 1893, p. 395.

scheiden: einmal steht die morphologisch-systematische Betrachtungsweise im Vordergrunde und sucht die den Ammoniakabbau fördernden Bakterienarten nach Form und Verwandtschaft kennen zu lernen; der andere Gesichtspunkt strebt in erster Linie danach, die Lebensbedingungen zu erforschen, unter denen eine kräftige Bakterientätigkeit und -leistung erfolgen kann. Dabei treten also die physiologischen Momente in den Vordergrund.

Die an der Ammoniakbildung vornehmlich beteiligten Mikroorganismen sind teils aeroben, teils anaeroben Existenzbedingungen angepaßt. Beide Gruppen können sowohl im lagernden Stalldünger wie in der Ackererde tätig sein, da die stete Gegenwart aerober Deckorganismen auch den sauerstoffscheuen Ammoniakbildnern eine ungehemmte Tätigkeit ermöglicht.

Die vorliegende Arbeit wurde unternommen, um einen Beitrag zur Lösung der Frage nach der Bedeutung beider Organismengruppen für die Ammoniakbildung in Dünger und Boden zu liefern. Dabei richtete ich mein Augenmerk speziell auf den Stickstoffabbau in den wichtigsten organischen Handelsdüngern (Knochenmehl, Blutmehl, Hornmehl und Fleischmehl), sowie in getrockneten Wicken (als Vertreter der zur Gründüngung benutzten Substanzen).

II. Untersuchungsmethoden.

Die zu den Versuchen benutzten Substanzen enthielten an Gesamtstickstoff nach Kjeldahl:

Fleischmehl	12,24 %
Hornmehl	12,70 %
Knochenmehl	4,40 %
Blutmehl	13,04 %
Wicken	4,60 %.

Im Anschluß an Parr[1]) richtete ich mich in der Wahl der prozentischen Menge des stickstoffhaltigen Materials nach Remy[2]), Ehrenberg[3]) und Wohltmann[4]). Dementsprechend wurden der mit Leitungswasser hergestellten 0,02 prozentigen Dikaliumphosphatlösung folgende Mengen zugesetzt:

Fleischmehl, Blutmehl, Hornmehl 1%
Knochenmehl, Wicken 3%.

Dadurch wurde den Aufschwemmungen eine ungefähr gleiche Stickstoffmenge zugeführt.

Zur Impfung der Lösung diente 5% Erde oder Dünger. Die Erde stammte aus dem Pflanzengarten, der Dünger von der Dungstätte am Rinderrassenstalle des landwirtschaftlichen Instituts der hiesigen Universität. Löhnis,[5]) der über die zu wählende Menge an Impfmaterial genauere Untersuchungen anstellte, fand, daß die Unterschiede, die durch Verwendung von 5% oder 10% hervorgerufen werden, relativ gering[6]) sind. Da es sich bei derartigen Versuchen stets nur um die Gewinnung von Vergleichsmaterial handeln kann, glaubte ich, mich mit 5% Impfmaterial begnügen zu können, die für meine Zwecke insofern den Vorzug verdienten, als damit eine weniger weit gehende Änderung in der chemischen Beschaffenheit der benutzten Lösungen herbeigeführt wurde, als es bei Verwendung der größeren Impfmengen der Fall gewesen wäre.

Die Versuchsdauer wurde für sämtliche Umsetzungen auf drei Wochen bemessen. Marchal[7]) wählte bereits 1893

---

[1]) Parr, Diss. phil. Leipzig, 1906.

[2]) Remy, Centralbl. f. Bakt., Abt. II, **8**, 1903, p. 661, 662.

[3]) Ehrenberg, landw. Jahrbücher, **33**, 1904, p. 1.

[4]) Wohltmann, H. Fischer & Schneider, Journ. f Landwirtsch., **52**, 1904, p. 97.

[5]) Löhnis, Centralbl. f. Bakt., Abt. II, **12**, 1904, p. 450.

[6]) Löhnis, Mitt. d. Ldw. Inst. d. Univ. Leipzig, **7**, 1905, p. 17.

[7]) Marchal, Bullet. de l'Acad. de Belgique [3] **25**, 1893, p. 738 ff.

diesen Zeitraum als Umsetzungsdauer. Später stellte Parr[1]) durch eingehende Versuche fest, daß speziell Untersuchungen über die Ammoniakbildungen aus Knochenmehl, Hornmehl und Blutmehl am besten auf 3 Wochen zu bemessen sind, Eine längere Ausdehnung der Versuche über diesen Zeitraum hinaus ist, wie aus einigen, von Löhnis[2]) erlangten Befunden hervorgeht, nicht angezeigt, da dann bereits Stickstoffverluste durch Ammoniakverdunstung sich in störender Weise bemerklich machen können.

Bei der Ausführung der Umsetzungsversuche verfuhr ich folgendermaßen:

Je 50 ccm Dikaliumphosphatlösung und die entsprechenden oben angegebenen Mengen der stickstoffhaltigen Substanzen wurden teils in Erlenmeyer-Kolben (für die aeroben Versuche) verteilt. Die Lösungen wurden durch je $1^1/_2$ stündige Erhitzung im strömenden Dampf an drei aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert.

Das übliche dreimalige Erhitzen von nur je 15 Minuten würde für die Vernichtung der sehr widerstandsfähigen Keime, wie sie besonders am Knochenmehl und Fleischmehl haften, nicht ausreichen.

Vor dem Impfen wurden die Lösungen mikroskopisch auf ihre Sterilität hin geprüft. Jedesmal wurden 2 Parallelversuche angesetzt.

Um den Anaeroben von Anfang an möglichst sauerstofffreie Nährsubstrate zu bieten, wurde in allen Fällen darauf geachtet, daß nur frisch sterilisierte Aufschwemmungen zur Verwendung gelangten. Der Verschluß der für die anaeroben Kulturen bestimmten Reagenzgläser wurde nach Wright-Burri[3]) durch 2 Wattestopfen hergestellt: der erste,

---

[1]) Parr, l. c.. p. 8, 10.

[2]) Löhnis, Mitt. d. Landw. Inst. Leipzig, Heft 7, 1905. p. 98/99.

[3]) Kürsteiner, Centralbl. f. Bakt., Abt. II, **19**, 1907, p. 23 ff.

aus nicht entfetteter Watte bestehende Stopfen, der das Reagenzglas schon beim Sterilisieren verschloß, wird oben abgeschnitten, abgebrannt und bis auf ca. $1^1/_2$—3 cm Abstand von der Flüssigkeit in das Reagenzglas hineingeschoben. — Der zweite, aus der allgemein bei bakteriologischen Arbeiten gebräuchlichen, fettfreien Watte bestehende Stopfen, der nicht steril zu sein braucht, wird auf den ersten dicht aufgeschoben, so daß sich die Stopfen möglichst auf der ganzen unteren Flache berühren, und mit alkalischem Pyrogallol zwecks energischer Sauerstoffabsorption getränkt. Dabei verfuhr ich in der Weise, daß ich zuerst 2 ccm 20%iger Pyrogallussäure, sodann 2 ccm 20%ige Kalilauge auf den oberen Stopfen auffließen ließ.

Um eine möglichst vollständige Absorption des Sauerstoffes herbeizuführen, machte ich den unteren Stopfen nicht zu fest; dem oberen Stopfen hingegen gab ich eine größere Dichtigkeit, weil sonst die Gefahr besteht, daß das hochprozentige alkalische Pyrogallol in die Flüssigkeit eindringt und die Bakterien vernichtet. Jedes Glas wurde dann sofort mit einem vorher gut verpaßten Gummistopfen fest verschlossen. Zum Teil benutzte ich auch die (billigeren) Korkstopfen, die ich mit einer starken Paraffinschicht überzog.

Die aeroben Versuchskolben wurden im Halbdunkel bei Zimmertemperatur, die anaeroben im Brutschrank bei 26 bis 30° C. aufbewahrt.

Nach Ablauf der Versuchsdauer erfolgte die Bestimmung der Menge des gebildeten Ammoniaks in der Weise, daß die zersetzten Flüssigkeiten einschließlich des Impfmaterials (Erde oder Dünger) in Destillierkolben übergespült und nach Zugabe von etwa 5 g MgO eine halbe Stunde unter Vorlage von $^1/_{10}$ Normal-Schwefelsäure erhitzt wurden. Zur Rücktitration diente $^1/_{10}$ Normalammoniak.

Zwecks Herstellung von Reinkulturen sterilisierte ich je

10 ccm der verschiedenen Nährsubstrate in kleinen Kolben oder in kleinen, starkwandigen Reagenzgläsern. Diese wurden mit je 2 großen Platinösen Material aus den mit Erde oder mit Dünger infizierten Gefäßen geimpft, nachdem die Zersetzung hierin 4 Tage vonstatten gegangen war.

Nachdem sich die aeroben Rohkulturen in den kleinen Kölbchen 8 Tage entwickelt hatten, verarbeitete ich sie nach der bekannten R. Kochschen Gußkulturmethode unter Verwendung von Fleischpeptongelatine. Diejenigen Bakterien, welche in ihren Kolonien auf den Platten ein verschiedenes Aussehen zeigten, wurden regelmäßig auf Fleischagar in Strichkultur übergeimpft, und von hier aus noch mehrmals Platten gegossen, bis sich die Kulturen als sicher rein erwiesen.

Zwecks Gewinnung anaerober Reinkulturen verfuhr ich nach der vereinfachten Burrischen[1]) Methode. Die starkwandigen, auf beiden Seiten offenen Röhrchen von der Länge und dem Durchmesser eines gewöhnlichen Reagenzglases sterilisierte ich, nachdem sie an beiden Enden mit Wattestopfen versehen waren, bei $1^1/_2$—2 Atmosphären Überdruck im Autoklav. Ebenso sterilisierte ich kurz vor dem Überimpfen exakt in die Röhrchen verpaßte Gummistopfen durch $1^1/_2$—2 stündiges Erhitzen in kochendem Wasser. Unmittelbar vor Beginn der Arbeit entfernte ich aus dem Röhrchen den Watteverschluß des nach unten gehaltenen Rohrendes und ersetzte ihn schnell durch einen der sterilen Gummistopfen. Sodann füllte ich unter möglichster Vermeidung von Fremdinfektionen die von den anaerob gehaltenen Rohkulturen in Fleischagar zu je 3 angelegten Verdünnungen, mit der schwächsten beginnend, in die Gläser ein. Ich benutzte zu diesen Schichtkulturen absichtlich das Fleischagar ohne besonderen Zuckerzusatz,

[1]) Kürsteiner, l. c.

weil in diesem Falle die auch in dem gewöhnlichen Fleischagar in der Regel deutlich hervortretende Gasbildung allzu stürmisch zu verlaufen pflegt, und es infolgedessen schwer hält, aus dem stark zerspaltenen Agar gut isolierte Kolonien abzuimpfen. Die beschickten, am oberen Ende wieder mit den sterilen Wattepfropfen verschlossenen Röhrchen stellte ich bei 35° C. in den Brutschrank. Nachdem sich die Kolonien bis zu gut sichtbarer Größe entwickelt hatten, nahm ich die Abimpfung in der Weise vor, daß ich zunächst mit schwacher Vergrößerung eine gut isolierte Kolonie aussuchte, alsdann die „Agarrolle" aus dem Kulturröhrchen hinausgleiten ließ, sie mit einem sterilen Messer möglichst dicht an der ausgewählten Kolonie durchschnitt und diese in ein frisch von Sauerstoff befreites Bouillonröhrchen abimpfte. Nach sofortigem Aufbringen des Wright-Burrischen Verschlusses stellte ich diese Bouillonkultur ebenfalls bei 35° C. in den Brutschrank. Am dritten Tage zeigte sich in der Regel eine kräftige Trübung, so daß wieder Agarkulturen in hoher Schicht angelegt werden konnten. Da das mikroskopische Bild der Kolonien in der Agarschicht über die Reinheit der Kulturen keine sichere Auskunft geben kann, so wurde nochmals in Bouillon übergeimpft, und aus dieser, sobald eine deutliche Trübung eingetreten war, Ausstrichpräparate angefertigt, die einer sorgfältigen Durchsicht unterzogen wurden. Bestanden Zweifel an der völligen Reinheit der betreffenden Kultur, so wurde nochmals auf die Agargußkultur zurückgegriffen, bis durchweg einwandfreie Reinzuchten gewonnen waren.

Zum Überimpfen der anaeroben Reinkulturen sterilisierte ich enge, zylindrische Glasröhrchen im Trockenschrank durch Erhitzen auf 200° und heberte mit diesen ca. 1 ccm der Reinkulturbouillon in die Stammnährflüssigkeit über, die zu je 50 ccm wie zu den ersten Umsetzungsversuchen in große Reagenzgläser portioniert waren. Der

Ammoniakgehalt des Impfmaterials wurde bei der späteren Destillation von den Resultaten in Abzug gebracht.

Bald nach dem Überimpfen trat die auch in anderen Fällen[1]) wiederholt beobachtete Erscheinung auf, daß die Anaeroben sich im Anwachsen und bei der Gährung trotz Überimpfung kräftig wachsender Kulturen als sehr unzuverlässig erwiesen. In einigen Gläsern half ich mit einer weiteren Dosis Impfmaterial nach. Auch dann zeigten sich die Bakterien teilweise noch einige Zeit sehr träge, bis sie plötzlich aus ihrer anscheinenden Lethargie erwachten, und Trübung der Flüssigkeit sowie Gasblasen ihre zersetzende Tätigkeit anzeigten. Einigemale regenerierte ich auch die etwas geschwächte Vegetationskraft mittels Passagekulturen in 0,5prozentiger Traubenzuckerbouillon. Dieses Verfahren war stets von Erfolg begleitet.

Drei Wochen nach der Überimpfung wurden die mit aeroben bezw. anaeroben Reinkulturen in Gang gebrachten Umsetzungsversuche abgebrochen und in derselben Weise wie bei den mit Erde oder mit Dünger eingeleiteten Versuchen das Ammoniak (einschließlich geringer Amidmengen) durch MgO abdestilliert.

Zur Identifizierung der Reinkulturen verfuhr ich in der allgemein üblichen Weise, indem ich auf den gebräuchlichen Nährböden (Fleischpeptonagar, –Gelatine, Bouillon, Milch, Kartoffel) prüfte und im mikroskopischen Bilde Aussehen, Färbbarkeit und Beweglichkeit feststellte.

---

[1]) Vgl. Bredemann, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **23**, 1909, p. 469.

III. Ergebnisse der Umsetzungsversuche.

1. Allgemeiner Überblick über den Verlauf der Versuche.

Naturgemäß sind die stofflichen Umsetzungen, die in den Versuchskolben von statten gehen, auch von wesentlichen, für das Auge und den Geruchsinn wahrnehmbaren Veränderungen begleitet. Die aeroben Kulturen rochen alle deutlich, aber nicht sehr stark nach Zersetzungsprodukten. Die anaeroben Kulturen wirkten durch ihre Gerüche sehr verschieden. Die Dünger- und Erdkulturen des Blutmehls strömten einen mittelstarken Verwesungsgeruch aus. Dies steht im Einklang mit den niedrigen Stickstoffzahlen, welche die Blutmehlumsetzungen bei der Destillation ergaben. Der Geruch der Fleischmehlkulturen ließ auf energische Fäulnis schließen; die Hornmehl- und Knochenmehlkulturen ließen deutlich durch den Geruch die Bildung flüchtiger Schwefelverbindungen erkennen, und ich konnte an der Wirkung auf Augen und Geruchssinn zweifellos das Vorhandensein von Ammoniak wahrnehmen. Diese Momente lassen auf einen besonders umfangreichen und tiefgreifenden Zersetzungsprozeß schließen. Die Wicken-Erdkulturen strömten einen süßlichen, leicht fauligen, die Wicken-Düngerkulturen einen deutlich Verwesung anzeigenden Geruch aus. Das Aussehen der verschiedenen Kulturen stand in einem gewissen Gegensatze zu dem durch den Geruchssinn und weiterhin durch die Ammoniakbestimmung festgelegten Zersetzungsgrade. Besonders die anaeroben Kulturen ließen trotz starker Ammoniakbildung eine verhältnismäßig nur geringe Veränderung im Aussehen erkennen. Nur die wolkige oder flockige Trübung der Flüssigkeit und die Bildung von Gasblasen wiesen auf die im Gange befindliche Umsetzungstätigkeit der Bakterien hin.

Auf diese Differenz zwischen Wachstumintensität und Stärke des Ammoniakbildungsvermögens wird später zurückzukommen sein. Es ist diese Tatsache von Bedeutung zur Gewinnung eines zutreffenden Urteils über die Ergebnisse von Isolierungsversuchen.

Im Gegensatz zu den anaeroben Umsetzungsversuchen zeigten die aeroben nach viertägiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur ein stark verändertes Aussehen, vor allem eine mehr oder minder starke Haut- und Schleimbildung auf der Oberfläche. Bei den Blutmehl- und Hornmehlkulturen, sowie den Erdkulturen des Knochenmehls konnte ich weniger von dieser Oberflächenveränderung bemerken; die Fleischmehlkulturen dagegen wiesen eine mittelstarke, die Düngerkulturen des Knochenmehls eine ziemlich kräftige und die Wickenkulturen eine sehr intensive Hautbildung auf, zu welcher bei den letzteren noch eine starke Schleimbildung hinzutrat.

Besondere Erwähnung dürfte noch das zum Teil sehr charakteristische Aussehen der anaeroben Agargußkulturen verdienen. Trotzdem ein nicht mit einer besonderen Zuckerprobe versehenes Fleischpeptonagar zur Anwendung gelangte, machten sich doch in den verschiedenen Röhrchen mehr oder weniger starke, durch Gasdruck veranlaßte Agarzersprengungen bemerklich. In den meisten Fällen zeigten die Düngerkulturen kräftigere Gasbildung als die Erdkulturen; nur beim Fleischmehl verhielt es sich umgekehrt, indem hier die Erdkulturen das Agar völlig zersprengten, während es die Düngerkulturen unverletzt ließen. In den beiden Blutmehlkulturen war gleichfalls keinerlei Gasentwicklung zu konstatieren. Dagegen markierte sich hier in der obenauf befindlichen stärksten Verdünnung die Wachstumsgrenze der Anaeroben nach oben hin auffallend scharf. Zu oberst bemerkte ich einzelne, aerobe Kulturen, darunter lag eine anscheinend sterile, dünne Agarschicht, an die sich nach

unten hin das reich mit anaeroben Keimen durchsetzte Substrat anschloß. Burri[1]) hat bereits auf diese auch von ihm mehrfach beobachtete Erscheinung hingewiesen, die er in der Weise erklärt, daß in der betreffenden Zone die Sauerstoffspannung für Aeroben zu gering, für Anaeroben zu hoch ist.

2. Destillationsergebnisse.

Die Untersuchungsresultate sind in den am Schluß meiner Arbeit beigegebenen Tabellen I—IV zusammengestellt. Für die Besprechung derselben scheint es am zweckmäßigsten, zuerst die Aeroben einer Betrachtung zu unterziehen und in einem weiteren Kapitel die Anaeroben abzuhandeln. In jedem dieser beiden Kapitel sollen die Ergebnisse der Roh- und der Reinkulturen getrennt zur Erörterung gelangen. Wie oben angegeben, wurden die Rohkulturen durch Infektion mit Erde oder mit Dünger hergestellt. Da diese beiden Gruppen hinsichtlich ihrer Effekte ein verschiedenes Verhalten aufwiesen, so hielt ich es für angebracht, demselben, soweit es im Interesse der Klarheit geboten erschien, bei der Gliederung der Arbeit Rechnung zu tragen.

Bezüglich der aeroben und anaeroben Rohkulturen ist hervorzuheben, daß die Bezeichnung allerdings streng genommen nicht völlig zutreffend erscheint. Diese Benennung besagt nur, daß die Art der Herstellung einmal den Aeroben, das andere Mal den Anaeroben die günstigsten Lebensbedingungen geschaffen hat. Eine völlige Sonderung der Aeroben von den Anaeroben war indessen naturgemäß hierbei nicht erreichbar, stets entwickeln sich vielmehr Mischkulturen (auch in Hinsicht auf das Sauerstoffbedürfnis), worauf an geeigneter Stelle noch zurückzukommen sein wird.

[1]) Burri, Centr.-Bl. f. Bakt., Abt. II, **17**, 1907, p. 805.

A. Versuche bei vollem Luftzutritt.

a) Rohkulturen.

α) Versuche mit Erde als Impfmaterial.

Ein Vergleich der in Tabelle I eingetragenen Parallelzahlen untereinander zeigt, daß die Ergebnisse im allgemeinen nur bis zu 4 % differieren. Vergleicht man die differente Zersetzlichkeit der verschiedenen organischen Stickstoffdünger, wie sie sich bei meinen Versuchen herausstellten, mit den in anderen Fällen erlangten analogen Ergebnissen, so resultiert nachstehende Reihenfolge für die verschiedenen Substanzen:

nach Müntz und Girard[1]): Guano, Gründung, Blutmehl, Fleischmehl, Hornmehl.

„ Fraps[2]): Blutmehl, Baumwollsaatmehl, Guano, Knochenmehl, Rinderdung (mit divergierender Reihenfolge in verschiedenen Böden).

„ Popp[3]): Blutmehl, Hornmehl, Knochenmehl, Wollstaub, Ledermehl.

„ Parr[4]): Knochenmehl, Hornmehl, Blutmehl.

in meinen Versuchen: Fleischmehl, Hornmehl, Knochenmehl, Gründung, Blutmehl.

Die Intensität der Ammoniakabspaltung bei den einzelnen Düngemitteln ist demnach großen Schwankungen unterworfen, besonders auffallend ist der Umstand, daß, während drei Autoren unter den Düngemitteln tierischer Herkunft Blutmehl an erster Stelle nennen, dasselbe bei

---

[1]) Müntz und Girard, Ann agron. **17**, 1891, p. 289 (ref. b. f. Agri.-Ch. **20**, 1871, p. 656.

[2]) Fraps, Journal Americ. Chemist Soc. **28**, 1906, p. 213—223.

[3]) Popp, Landw. Vers. Stat. **68**, 1908, p. 253—300.

[4]) Parr, l. c.; außerdem Löhnis und Parr, Centr.-Bl. f. Bakt., Abt. II, **17**, 1906/07, p. 518.

Parr und mir an letzter Stelle steht. Da Parr und ich mit demselben Blutmehl gearbeitet haben, so ist anzunehmen, daß derartige Unterschiede in den Zersetzungsresultaten verschiedener Forscher auf die spezifische Beschaffenheit des Materials zurückzuführen sind.

Naturgemäß können Übereinstimmungen bei der Prüfung verschiedenartiger Substanzen vorkommen, ohne daß in anderen Fällen ebenfalls hierauf zu rechnen wäre. Wie verschieden bisweilen beim selben Material die Umsetzungen ausfallen, zeigen einige Forschungen von Neßler[1]) und Tuxen[2]). Neßler konstatierte, daß innerhalb von zwei Monaten der Stickstoff des von ihm geprüften gedämpften Knochenmehls zur Hälfte umgesetzt wurde. Tuxen erzielte das gleiche Resultet bereits nach Verlauf von einem Monat. Die Zersetzung von Knochenmehl wird mehr oder weniger durch die Jahreszeit[3]) beeinflußt. Verstärkte Lüftung wirkte bei den von Löhnis durchgeführten Umsetzungsversuchen mit Roh- und Reinkulturen förderlich auf die Ammoniakbildung ein. Die kräftige Wirkung dieses Düngemittels auf luftdurchlässigen, sandigen Böden erklärt es, daß Steffeck und Märker[4]) in Vegetationsversuchen auf Sand 70—80 %, auf Lehm dagegen nur 52—73 % der Chilesalpeterwirkung fanden. Unabhängig von der prozentrischen Menge des verwendeten Knochenmehls wurden in den Versuchen von Löhnis und Parr, zu denen in beiden Fällen Erde vom Versuchsfelde des Leipziger Landwirtschaftlichen Instituts benutzt wurde, 23 - 33 % des Stickstoffs und in Überein-

---

[1]) Neßler, Agron. Ztg. 1868, p. 87 (ref. Jahresber. Agr. Chem. 11/12 p. 362).

[2]) Tuxen, Tidskr. f. landöcon. [5] 2, 1884, p. 201 (ref. Forsch. Arg. Phys. 8, 1885, p. 291).

[3]) Löhnis, Mitt. landw. Inst. **7**, 1905, p. 30f., 79f.; Parr, l. c.

[4]) Steffeck und Märcker, Jahresb. d. Vers.-Stat. Halle a. S., 1893/94 (ref. Jahrb. Agr. Chem., **38**, 1895, p. 123).

stimmung hiermit der Knochenmehlstickstoff bei entsprechenden Düngungsversuchen auf dem Versuchsfelde selbst zu ca. 26 % ausgenutzt. Innerhalb fünf bis zehn Tagen wurde nach den Beobachtungen von Parr[1]) zwei Drittel soviel Ammoniak aus dem Knochenmehl abgespalten, wie in meinen mit Erde angesetzten Kulturen im Verlauf von 21 Tagen.

J. Lipman[2]), erhielt gleichfalls mehr oder minder weit differierende Ergebnisse in Pepton-, Kaseïn- und Albuminlösungen, die mit verschieden gedüngter Erde geimpft wurden. Neuere Versuche von Lipman und Brown[3]) ergaben beim Vergleich der Ammoniakbildung aus Pepton, Harnstoff, Eiweiß und Blutmehl wiederum zumm Teil namhafte Differenzen. Bezüglich der Resultate anderer Forscher mit Hornmehl ist noch zu erwähnen, daß dasselbe sich als leicht abbaufähig erwies, speziell übertraf es in seiner Wirkung nach A. von Sigmond's[4]) Beobachtungen das Blutmehl. Eine ausnahmsweise starke Zersetzung erzielte Morgen[5]), der nach vier Wochen bei 30° C. 52,4 % vom Gesamtstickstoff in Lösung fand. Vom Blutmehlstickstoff sah Fraps[6]) in drei Wochen die Hälfte in Ammoniak übergehen.

Aus diesen Beispielen geht zur Evidenz hervor, daß wir, um die von einer organischen Stickstoffdüngung zu erwartende Wirkung veranschlagen zu können, die Intensität der in einem Boden vorhandenen ammoniakbildenden Kraft ermitteln müssen. Diese Kraft nennt Remy[7]) „Fäulnis-

---

[1]) Parr, l. c., p. 43.

[2]) J. Lipman, New-Yersey, Agric. Exp. Stat. Rept. **26**, 1905, p. 239, 246.

[3]) Ann. Rep. New-Yersey Agric. Stat. **29**, 1908, p. 129.

[4]) A. von Sigmond, Landw. Vers.-Stat., **59**, 1904, p. 179.

[5]) Morgen, landw. Vers.-Stat., **26**, 1880, pag. 66ff.

[6]) Fraps, l. c.

[7]) Remy, CEntr.-Bl. f. Bakt., Abt. II, **8**, 1902, pag. 660.

kraft“ und beurteilt dieselbe nach der durch Magnesia usta abspaltbaren Menge von (Ammon-, Amin- und extra radikalem Amid-)Stickstoff, die bei 20° C. innerhalb vier Tagen in einer mit 10 % Erde geimpften, 1prozentigen Peptonlösung zur Entstehung gelangt. Wurden die geprüften Erdarten mit Eiweiß gedüngt, so ergaben sich beachtenswerte Übereinstimmungen, z. B. wurden folgende Relationen festgestellt:

	In vier Tagen aus Pepton abgespaltener Stickstoff	Ausnutzung des Eiweißstickstoff im Düngungsversuch.
Erde von Falkenrehde	100	100
„ „ Berliner Versuchsfeld . .	144	138
„ „ Gr.-Behnitz	156	163

Ebenso wie in diesen und den von Löhnis mit Knochenmehl angestellten Versuchen trat auch in den oben erwähnten Untersuchungen Lipman's zwischen der Intensität der Ammoniakbildung im Umsetzungsversuch und der Ausnutzung des betreffenden Düngemittels auf dem zur Impfung verwendeten Boden ein deutlicher Parallelismus zu tage. Doch lehren sowohl diese, wie die namentlich von Parr erlangten Befunde, daß das Verhalten einer Substanz nicht ohne weiteres einer Verallgemeinerung fähig ist; von einer generellen Fäulniskraft des Bodens kann nicht gesprochen werden.

β) Versuche mit Stalldünger als Impfmaterial.

Für meine aneroben Rohkulturen aus Dünger habe ich kein völlig analoges Vergleichsmaterial zur Verfügung. Immerhin sind mit Kot und Dung einige Versuche gemacht worden, welche Berücksichtigung verdienen. Severin[1])

[1]) Severin, Centr.-Bl., Abt. II, 1897 p. 714, 7, 1901 p. 376.

prüfte eine Anzahl aerober Bakterien hinsichtlich ihrer ammoniakbildenden Fähigkeiten in Gemischen von Kot, Stroh und Wasser mit absolut negativem Resultat. Die Zersetzung der kohlenstoffhaltigen Substanz war recht beträchtlich; eine Ammoniakbildung unterblieb indessen während der zweimonatigen Versuchsdauer völlig. Jentys[1]) sah aus festen Exkrementen innerhalb eines Monats bei Luft- bezw. Sauerstoffzutritt nur 10 % des Stickstoffes in Ammoniak übergehen; Dietzell[2]) ermittelte, daß von einem Kot-Strohgemisch im Verlauf eines halben Jahres bei dauernder Lüftung nur ca. 3 % des Stickstoffes zu Ammoniak abgebaut waren.

Vergleicht man diese Resultate mit den in Tabelle I mitgeteilten, so fällt ohne weiteres der eminente Unterschied in die Augen, der darauf zurückzuführen ist, daß hier den Düngerbakterien eine in jenen Fällen fehlende, relativ leicht angreifbare Stickstoffquelle zur Verfügung gestellt war.

Mit Ausnahme der Fleischmehlversuche zeigten sich erhebliche Umsetzungssteigerungen, wenn statt Erde Stalldünger (Rinderdung als Impfmaterial gewählt wurde. Bei Blutmehl ist der Steigerung von 50 % keine so große Bedeutung beizumessen, weil die Umsetzungswerte an sich sehr geringe sind. Die betreffenden Zahlen für Knochenmehl, Wicken und Hornmehl erhöhen sich um rund 31—21,5—18,5 %.

Die größere Ausbeute an abgespaltenem Stickstoff in den Düngerkulturen stehe ich nicht an, aus der spezifischen Beschaffenheit der Mikroflora des Düngers und der Erde zu erklären. Im lagernden Stallmist finden anaerobe Arten besonders zusagende Existenzbedingungen, während dies in der reichlich durchlüfteten Ackererde nur in geringerem Grade der Fall ist. Sie kommen infolgedessen in den mit

---

[1]) Jentys, Anz. d. Akad. d. Wissensch., 1892, p. 194.
[2]) Dietzell, landw. Vers.-Stat. **48**, 1897. p. 163ff.

Stallmist infizierten Lösungen ebenfalls zu üppiger Entwickelung, in flacher Schicht unter dem Schutze der gleichzeitig vorhandenen Aeroben Ihr besonders starkes Ammoniakbildungsvermögen bedingt im allgemeinen die Steigerung der Umsetzungsergebnisse.

Eine Ausnahme in dieser Hinsicht stellte sich für die Fleischmehlversuche heraus, insofern hier Düngerkulturen und Erdkulturen gleiche Werte aufweisen. Der Grund dafür dürfte in der spezifisch leichten Abbaufähigkeit und damit in der großen Fäulniskraft des Fleischmehls zu suchen sein.

b) Reinkulturen.

Bevor ich die Destillationsergebnisse bespreche, die für die mit den aeroben Reinkulturen eingeleiteten Versuchen gewonnen wurden, will ich zunächst auf die am häufigsten aufgefundenen Bakterienarten kurz eingehen.

Folgende Bakterien wurden isoliert:

Aus Fleischmehl.

Impfung mit Erde: Bact. fluorescens (Flügge). L. & N.
„ „ „ „ nubilum (P. et G. Frankland) L. et N. (var. non liquef.).

„ „ Dünger: Bact. fluorescens (Flügge). L. & N.
Bact. punctatum (Zimmermann). L. & N.
Bact. radiobacter (Beyerinck). Löhnis.

Aus Knochenmehl.

Impfung mit Erde: Bact. punctatum (Zimmermann). L. & N.

„ „ Dünger: Bact. radiobacter (Beyerinck). Löhnis.

Aus Hornmehl.

Impfung mit Erde: Bact. putidum (Flügge) L. et N.

„ „ Dünger: Bact. radiobacter (Beyerinck). Löhnis.

Aus Blutmehl.

Impfung mit Erde: Bact. erythrogenes (Grotenfelt). L. & N.

„ „ Dünger: Bact. radiobacter (Beijerinck). Löhnis.

Aus Wicken.

Impfung mit Erde: Bact. radiobacter (Beijerinck). Löhnis.
Bact. putidum (Flügge). L. & N.
Bact. punctatum (Zimmermann). L & N.
Bact. fluorescens (Flügge). L. & N. (Auf Agar und Kartoffel tiefbraun.)

„ „ Dünger: Monilia candida Hansen.
Bact. erythrogenes (Grotenfelt). L. & N.
Bac. prodigiosum (Ehrenberg). L. & N,
Bact. putidum. (Flügge). L. & N.

Aus dieser Übersicht geht hervor, daß Bact. radiobacter sehr regelmäßig in den verschiedenen Lösungen auftrat: es dominierte auf den Gelatineplatten beim Fleischmehl und Blutmehl, und zwar in beiden Fällen dann, wenn zur Impfung Stalldünger gedient hatte.

Nach früheren Untersuchungen fallen unter den an der Fleischfäulnis sonst mittätigen Aeroben die Proteusarten[1]) auf, die indessen von mir nicht wahrgenommen werden konnten.

Die Tatsache, daß Wicken und Knochenmehl vorherrschend Bact. fluorescens, putidum und punctatum zur Entwickelung kommen ließen, ist insofern bemerkenswert, als diese drei Arten verwandschaftlich einander entschieden nahestehen. Die aus Wicken isolierten Fluorescensstämme (in Tabelle II mit III und IV bezeichnet) waren dadurch ausgezeichnet, daß in den Agar- sowie in den Kartoffelkulturen eine tiefbraune Färbung sichtbar wurde. Sie zeigten also

[1]) Kuhn, Arch. f. Hyg., **13**, 1891, p. 51ff.

das gleiche Verhalten, das Löhnis und Kuntze[1]) an einer dem Stalldünger entstammenden Fluorescens-Varietät wahrgenommen haben. Charakteristisch für Wicken scheint auch Bact. prodigiosum zu sein, das auf den Gelatineplatten aus Wickenaufschwemmungen mit Bact. fluorescens das Feld beherrschte. Die gleichfalls aus Wicken isolierte Monilia candida Hansen hat wohl, wie andere Pilze, mehr die Funktion, die den Bakterien schädlichen, der Pflanze entstammenden Säuren zu absorbieren[2]). Bekanntlich ist die Monilia ein häufiger Bewohner frischen Kuhdüngers, aus dem sie auch im vorliegenden Falle stammte. Vereinzelt fand sich noch Bact. erythrogenes vor, das nach Löhnis[3]) auch Harnstoff spaltend wirkt. Endlich ist noch ein einmaliges Auftreten eines kräftigen, nicht verflüssigenden Stammes von Bacterium nubilum in Fleischmehl-Erdaufschwemmungen zu erwähnen, dessen kulturelle Eigenschaften der von Lehmann und Naumann gegebenen Beschreibung — abgesehen von dem fehlenden Gelatineverflüssigungsvermögen — entsprachen.

In Tabelle II finden sich diejenigen Resultate zusammengestellt, die erkennen lassen, in welchem Grade sich die verschiedenen isolierten Stämme zur Ammoniakbildung in denjenigen Lösungen, aus denen sie isoliert wurden, befähigt erwiesen. Aus den Zahlen geht hervor, daß die verschiedenen Arten eine sehr ungleiche Wirksamkeit in dieser Hinsicht entfalteten, und einige eine besondere Vorliebe für eine bestimmte Substanz zeigten; sogar bei dem gleichen Material ergaben sich bisweilen erhebliche Unterschiede zwischen den aus Erde und aus Stalldünger stammenden Kulturen.

---

[1]) Löhnis und Kuntze, Centr.-Bl. f. Bact., II. Abt., **20**, 1908, p. 687.

[2]) Zopf, Pilze, 1890, p. 477.

[3]) Löhnis, Centr.-Bl. f. Bact., II. Abt., **2**, **14**, 1905, p. 820

Aus einem Vergleich von Tabelle I und II geht hervor, daß keine übereinstimmenden Beziehungen zwischen Roh- und Reinkulturen bestehen. Wenn zufällig dieselbe Spezies aus Erd- und aus Düngerkulturen isoliert wurde, zeigte sich dasselbe Verhalten wie bei den Rohkulturen; stets spaltete die Düngerkultur mehr Ammoniak ab, als die Erdkultur.

Berechnet man aus den in Tabelle II enthaltenen Einzelangaben die Durchschnittswerte, so ergibt sich folgende Übersicht über die Intensität der Ammoniakbildung durch die aeroben Reinkulturen:

Bakterien-Spezies	Herkunft	Die Aufschwemmungen enthielten: Fleisch-mehl	Wik-ken	Knochen-mehl	Horn-mehl	Blut-mehl
Bact. fluorescens	Erde	5.04	25.96			
	Dünger	34.32				
„ punctatum	Erde		31.40	31.66		
	Dünger	43.92				
„ radiobacter	Erde		16.44			
	Dünger	0,67		{ 6.74 13.63	6.07	6.93
„ putidum	Erde		15.42		5.29	
	Dünger		18.57			
„ erythrogenes	Erde					7.09
	Dünger		26.68			
„ prodigiosum	Dünger		17.41			
„ nubilum	Erde	4.63				
Monilia candida	Dünger		10.0			

Die aus der Fleischmehlaufschwemmung isolierten Stämme von Bakterium fluorescens bildeten, soweit sie der Erde entstammten, nur relativ wenig Ammoniak (5,04%), während sie aus den Düngerkulturen über ein Drittel des verfügbaren Stickstoffes abspalteten. Löhnis und Stoklasa er-

mittelten dieses Bakterium als schwachen Ammoniakbildner in Knochenmehlaufschwemmungen, stärker wirksam waren die von Parr in Peptonlösung geprüften Kulturen. Auch bei den Wicken-Erdkulturen zeigte sich Bact. fluorescens als kräftiger Ammoniakbildner.

Ebenso differierte Bact. punctatum erheblich in seinem Verhalten gegen Fleischmehl einerseits, dessen Stickstoff fast zur Hälfte durch eine dem Dünger entstammende Kultur abgebaut wurde, während es zwei Stämme aus Erde in Knochenmehl- und Wicken-Aufschwemmung nur zu ein Drittel des Gesamtstickstoffes zu zersetzen vermochte. Bact. punctatum fand Parr als kräftigen Blutmehl- und Hornmehlzersetzer.

Die größten Schwankungen in der Stärke seines Ammoniakbildungsvermögens zeigte Bact. radiobacter, das im Fleischmehl nur 0,67% des verfügbaren Stickstoffes umsetzte, während sich der entsprechende Betrag bei Wicken auf 16,44% belief. Besonders auffallend sind die großen Differenzen, die sich für demselben Ausgangsmaterial entstammende Kulturen ergaben; von zwei aus einer Knochenmehl-Düngeraufschwemmung isolierten Stämmen vermochte der eine nur halb so viel Stickstoff abzuspalten als der andere.

Desgleichen zeigte Bact. putidum ein sehr ungleiches Verhalten gegenüber Hornmehl und Wicken; in diesem Falle zersetzte wiederum die aus Dünger gezüchtete Kultur erheblich lebhafter als die der Erde entstammende. Im Gegensatz zu meinen Resultaten zersetzte Bacterium putidum Hornmehl in Parrs Versuchen ziemlich erheblich. Auch Blutmehl vermochte es energisch, Knochenmehl aber nur schwach anzugreifen.

Bact. erythrogenes führte von dem in Form von Wicken-Grünsubstanz dargebotenen Stickstoff viermal so viel in Ammoniak über als vom Blutmehl-Stickstoff.

Bact. nubilum wurde nur aus der Fleischmehl-Aufschwemmung isoliert; der von mir geprüfte Stamm erwies sich als schwacher Ammoniakbildner.

Bact. prodigiosum trat speziell in der Wickenaufschwemmung als relativ kräftiger Ammoniakbildner hervor

Der einzige, von mir isolierte Vertreter der Schimmelpilze, Monilia candida, zeigte keine sehr kräftige Ammoniakbildung (10% i. M.). Marchal[1]) erkannte eine ganze Reihe verschiedener Schimmelpilze als mehr oder weniger kräftige Eiweißzersetzer. Auch Butkewitsch[2]) hat die abbauende Tätigkeit der Schimmelpilze näher verfolgt und fand Aspergillus niger als kräftigen Ammoniakbildner, während Penicillium- und Mucorarten neben wenig Ammoniak viel Amidosäuren zur Entstehung gelangen ließen.

Vergleicht man die von mir für die verflüssigenden und nicht verflüssigenden Fluorescenten sowie für deren farblose Parallelform (Bact. punctatum) erlangten Befunde mit den Mengen von Ammoniakstickstoff, die Marchal[3]) unter Verwendung von Eiweiß und Stoklasa[4]), Löhnis[5]) und Parr[6]) in Knochenmehllösungen für andere Stämme derselben Bakterienarten erlangten, so ergibt sich folgende Übersicht:

[1]) Marchal, Bullet. de l'Acad. de Belgique [3], **25**, 1893, p. 738 ff.

[2]) Butkewitsch, Jahrb. f. wiss. Bot. 38, 1903, p. 153—165.

[3]) Marchal, Centralbl. f. Bakt., Abt. II, **1**, 1895, p. 757.

[4]) Stoklasa, Centralbl. f. Bakt., Abt. II, **6**, 1900, p. 526.

[5]) Löhnis, Habilit.-Schr., Mitt. d. Ldw. Inst., **7**, 1905, p. 78/79.

[6]) Parr, l. c.

Ammoniakbildung in Prozenten des Gesamtstickstoffes:

Autor	Versuchs- Dauer	Versuchs- Temp.	Nährsubstrat	Bact. fluorescens	Bact. putidum	Bact. punctatum
Marchal	20 Tage	30° C.	Eiweiß	22,60	22	
Stoklasa	33 „	Zimmertemp.	Knochenmehl	16		
Löhnis		„				
Parr		„				
Stern	3 Wochen	„	Knochenmehl Fleischmehl Hornmehl Wicken			

Im ganzen haben demnach die von mir isolierten Stämme eine intensivere Zersetzung bewirkt, als die von anderen Autoren geprüften.

In derselben Richtung weichen meine mit Bacterium radiobacter erlangten Befunde von den Ermittelungen Stoklasa's[1]) ab, der diese Art als schwachen Ammoniakbildner bezeichnet; in meinen Versuchen zersetzt der Radiobacter-Stamm VI das Knochenmehl (13,63 % i. M.) und Stamm XI die Wicken (16,44 % i. M.) ziemlich kräftig.

B. Versuche bei Luftabschluß.

Während bei den bisherigen Forschungen über Ammoniakbildung aus organischen Düngemitteln ausschließlich die aeroben Organismen nähere Berücksichtigung fanden, zog ich auch die anaeroben Bakterien in den Kreis meiner

[1]) Stoklasa, Centr.-Bl. f. Bakt., Abt. II, 17, 1907, pag. 262.

Untersuchungen, auf deren hohe Bedeutung für die Fäulnisprozesse bereits wiederholt hingewiesen wurde.

a) Rohkulturen.

Ein Vergleich der in Tabelle III eingetragenen Parallelergebnisse der Ammoniakbestimmungen läßt im allgemeinen eine Schwankung bis zu 4 % erkennen entsprechend dem für die aeroben erlangten Resultate. In abnehmendem Grade wurde der Stickstoff abgebaut aus:

Fleischmehl, Knochenmehl, Wicken, Hornmehl, Blutmehl.

Hieraus geht deutlich hervor, daß zwischen Aeroben und Anaeroben kein Parallelismus bezüglich der Intensität der Ammoniakbildung aus den verschiedenen Substanzen besteht. Zwar rangiert beide Male Fleischmehl an erster und Blutmehl an letzter Stelle, was nach dem Vorausgesagten auf die leichte Zersetzlichkeit bezw. auf die spezifische Untauglichkeit der betreffenden Materialien zurückzuführen ist. (Vgl. Seite 25 bezw. 21.) Dagegen stehen die Wicken als Typus eines vegetabilischen Düngemittels in dieser Folge an dritter Stelle, während sie bei den Aeroben als die vorletzten genannt wurden. Ob vielleicht bei den pflanzlichen, stickstoffhaltigen Substanzen die von Omelianski[1]), Maefayden und Blaxall[2]) studierten, anaeroben Pektin- und Zellulosezersetzer den ammoniakbildenden Anaeroben in vorbereitender Weise das Substrat für ihre Tätigkeit zugänglich gemacht haben, das festzustellen muß weiteren Forschungen vorbehalten bleiben. Jedenfalls zeigte auch Bienstock[3]), daß, wie tierische, so auch pflanzliche

[1]) Omelianski, Centr.-Bl. f. Bakt. Abt. II, **8**, 1902, p. 193ff.

[2]) Blaxall und Maefayden, Transact. of the Jeuner inst. of prevent. med. 1899, p. 182 ff.

[3]) Bienstock, Arch. f. Hyg. **39**, 1901, p. 398ff.

Eiweißstoffe der Zersetzung durch Anaeroben in hohem Maße anheimfallen können; speziell bewies er dies durch Kultur seines Bacterium putrificus auf Weizenkleber.

Auch bei den anaeroben Rohkulturen des Fleischmehls sind ebenso wie bei den aeroben die gefundenen Werte für Erd- und Düngerkulturen als annähernd gleich zu erachten; dasselbe ist beim Knochenmehl der Fall. Bei Hornmehl und Wicken differieren die Zahlen um 11 bezw. 21 %; bei Blutmehl ist wiederum infolge seiner schwachen Zersetzlichkeit der anscheinend hohen Differenz zwischen den Werten der Erd- und Düngerkultur keine besondere Beachtung zu schenken. Auffallend ist allerdings, daß bei den anaeroben Rohkulturen des Blutmehls im Gegensatz zu den anderen Substanzen die Düngerkulturen niedrigere Werte ergaben als die Erdkulturen. Im Einklange damit steht die Tatsache, daß ich ein anaerobes Blutmehl-Erdgläschen, das der Abimpfung zwecks Züchtung von Reinkulturen gedient hatte, nach ungefähr zwei Monaten blutrot gefärbt fand. Die Anaeroben hatten das Blutmehl soweit zersetzt, daß die roten Blutkörperchen in die Flüssigkeit übergegangen waren, das Blutmehl-Düngergläschen dagegen hatte seine ursprüngliche Färbung fast bewahrt, ebenso wie alle anderen anaeroben Gläschen.

Vergleichen wir nun für die einzelnen Düngemittel die Resultate der aeroben und anaeroben Rohkulturen, so kommen wir für die verschiedenen Substanzen zu sehr verschiedenen Schlüssen Namhafte Steigerungen ergaben sich nur bei den anaeroben Rohkulturen des Fleischmehls, das mit einer 65—66 % des Gesamtstickstoffs ergreifenden Ammoniakbildung die entsprechenden Stickstoffzahlen der aeroben Kulturen um 43 % übertrifft und damit von keinem der anderen untersuchten Düngemittel auch nur annähernd erreicht wird. Diese energische Umsetzung läßt allerdings auf eine bedeutend erhöhte

Wirksamkeit gewisser Anaeroben gegenüber den Aeroben schließen.

Auch die anaerob gehaltenen, mit Erde geimpften Knochenmehl-Lösungen erfuhren eine weit stärkere Zersetzung als diejenigen, zu denen der Luft ungehinderter Zutritt ermöglicht war. Die Befunde, die bei den mit Dünger geimpften Knochenmehl-Aufschwemmungen erlangt waren, stimmten in beiden Fällen durchaus überein. Offenbar sind hier sowohl unter aeroben wie anaeroben Bedingungen die reichlich im Dünger vorhandenen[1]) luftscheuen Ammoniakbildner zur Entwickelung gekommen, während sie infolge ihres spärlichen Vorkommens in Erde in den betreffenden Kulturen bei ungehemmtem Luftzutritt gegenüber den üppig sich entwickelnden aeroben Arten kaum zu ansehnlicher Wirkung zu kommen vermochten; vielmehr bedurfte es hier zunächst des durch den völligen Luftabschluß zur Geltung gebrachten, elektiven Momentes.

Ein auffallendes Ergebnis lieferten die anaeroben Hornmehlkulturen, in denen die Ammoniakbildung auffallend geringer war, als bei vollem Luftzutritte. Ein ähnliches Resultat wiesen — wie schon früher erwähnt — die Blutmehldüngerkulturen auf, während die aeroben und anaeroben Blutmehlerdkulturen nur wenig von einander abwichen.

Der hohe Zersetzungsgrad, den meine anaeroben Rohkulturen des Fleischmehls aufwiesen, spricht dafür, daß die typische Fleischfäulnis vornehmlich das Werk luftscheuer Bakterien ist. Dieses Resultat steht im Einklang mit den Forschungen von Bienstock[2]), Achalme[3]), Tissier et Mar-

---

[1]) Löhnis (Handb. d. landw. Bakteriologie, 1910, p. 430) bezeichnet geradezu den lagernden Stalldünger als „wichtige Anaeroben-Brutstätte".

[2]) Bienstock, Arch. f. Hyg., **36**, 1899, p. 377.

[3]) Achalme, Ann. d'inst. Pasteur., **16**, 1907, pag. 641—661.

telly[1]) und anderen, die ermittelten, daß bei Fleisch- und Fibrinfäulnis die Tätigkeit der Anaeroben in der Regel entschieden überrage. Desgleichen konstatierten Beijerinck[2]) und Müntz[3]) — jener für Pepton — einen förderlichen Einfluß des Luftabschlusses.

b) Reinkulturen.

Aus sämtlichen verschiedenen Ausgangsmaterialien wurde nur eine Art von Anaeroben isoliert. Sechs Kulturen zeigten durchaus die typischen Eigenschaften des Streptococcus pyogenes, vier variierten insofern, als sie die Gelatine zur Verflüssigung brachten. Diese an pathogenen Stämmen der genannten Art bisher nicht beobachtete Fähigkeit ist bei den Milchsäure-Streptokokken, die nach dem übereinstimmenden Urteil sämtlicher Autoren als avirulente Varietäten des Streptococcus pyogenes aufzufassen sind[4]), mehrfach konstatiert worden[5]).

Die besonders in diesen Fällen ohne weiteres wahrnehmbare Befähigung zur Aufschließung unlöslicher organischer Stickstoffverbindungen komplizierter Natur wurde auch schon an typischen Streptococcus pyogenes-Stämmen von Tissier und Martelly[6]), sowie von O. Emmerling[7]), wahrgenommen. Besonders interessant ist im Zusammenhang mit den von mir erlangten Befunden die von dem

---

[1]) Tissier et Martelly, l. c.

[2]) Müntz, Ann. de la science agron. 1889, p. 70. (Ref. Jahresber. d. Gährgsorg. **2**, p. 219.)

[3]) Beijerinck, Centr.-Bl. f. Bakt., Abt. II, 1, 1895, p. 109.

[4]) Löhnis, Handb. d. landw. Bakt. 1910, p. 195.

[5]) Eine Zusammenstellung der betr. Formen gab Löhnis im Centr.-Bl. f. Bakt., II. Abt., **18**, 1907, p. 131.

[6]) Tissier et Martelly, l. c.

[7]) O. Emmerling, Berichte d. deutschen Chem. Ges., Bd. II, Jahrg. 30. 1897, p. 1863 ff.

zuletzt genannten Autor konstatierte, bisher aber noch von keiner anderen Seite bestätigte Tatsache, daß speziell unter anaeroben Bedingungen Streptococcus pyogenes sich als intensiver Fibrinzersetzer erwies.

Die in Tabelle IV zusammengestellten Destillationsergebnisse lassen erkennen, daß die geprüften Stämme zum Teil recht ansehnliche Umsetzungen hervorzurufen imstande waren.

In abnehmendem Grade wurden der Stickstoff abgebaut aus:

Knochenmehl, Fleischmehl, Blutmehl, Hornmehl, Wicken.

Hierbei fällt besonders auf, daß das bisher immer obenanstehende Fleischmehl seinen Platz räumen mußte, und daß Blutmehl von der letzten zur dritten Stelle aufrückte. Offenbar haben in den Blutmehl-Rohkulturen antagonistische Prozesse dahin gewirkt, daß der Umsetzungseffekt geringer war, als in den Reinkulturen. Die relativ schwache Ammoniakbildung in den Fleischmehl-Reinkulturen ist dagegen zweifellos, wenn nicht ausschließlich, so doch teilweise in dem bereits eingangs erwähnten Umstande zu suchen, daß sehr häufig ein gewisser Gegensatz in der Intensität des Wachstums und des Ammoniakbildungsvermögens der beteiligten Organismen zur Geltung kommt. Dieser Umstand hat zur Folge, daß in den Gußkulturen die besonders kräftig wirksamen, aber nur schwach wachsenden, bezw. in nur geringer Anzahl vorhandenen Ammoniakproduzenten nicht zur Beobachtung kommen, während sich die weniger tätigen Keime in der Überzahl einstellen.

Ein ähnlicher Fall von Überwucherung wurde von Löhnis bei Versuchen über Harnstoffzersetzung beschrieben. Hier verdrängte der üppig wuchernde, aber träge und nur schwach zersetzende Bacillus Freudenreichii den energisch

harnstoffspaltenden, aber nur in sehr geringer Zahl vorkommenden Urobacillus Pasteurii. Auch Parr erzielte oft ungleich höhere Resultate in den Rohkulturen, während es ihm wahrscheinlich aus den genannten Gründen nicht gelang, die kräftigen Ammoniakbildner zu isolieren, wie die Ergebnisse seiner Reinkulturversuche zeigen.

IV. Folgerungen aus den Versuchen und einige Bemerkungen über die Leistungen symbiotischer und enantiobiotischer Mikrobengemische.

Aus den besprochenen fremden und eigenen Beobachtungen geht zunächst zur Evidenz hervor, daß die Tätigkeit der anaeroben Ammoniakbildner entschieden mehr Beachtung und eingehendere Erforschung verdient, als ihr bisher im allgemeinen zuteil wurde. Speziell für den Stoffabbau in landwirtschaftlichen Betrieben sind diese Organismen zweifellos von nicht zu unterschätzender Bedeutung. Neben dem Studium der Reinkulturen verdient aber ferner das Verhalten der an den natürlichen Standorten auftretenden Bakteriengemische eingehende Beachtung. Es ergab sich, daß unter Umständen eine Verdrängung der kräftigen durch schwächer wirksame Keime stattfinden kann, ferner traten Hemmungen durch antagonistische Wirkungen, andererseits Förderungen durch symbiotisches Hand-in-Hand-Arbeiten wiederholt deutlich in die Erscheinung.

Es ist bekannt, daß nicht allein zwischen höher stehenden Pflanzen, sondern auch zwischen den Mikroorganismen die verschiedenartigsten, symbiotischen Beziehungen

bestehen. So bemerkte bereits im Jahre 1863 Pasteur[1]), daß frei der Luft exponierte Nährflüssigkeiten, falls dieselben nur in genügend hoher Schicht vorhanden sind, streng anaeroben Mikroorganismen als Nährböden dienen können. Meine Versuchsergebnisse lieferten, wie erwähnt, erneut mehrfache Bestätigung dieses Befundes. Besondere Erwähnung verdient in diesem Zusammenhange die von Orla Jensen[2]) konstatierte Tatsache, daß zuweilen Mischkulturen verschiedener aerober Bakterien weit lebhaftere Stickstoffumsetzungen bewirken können als die betreffenden in Reinkultur gezüchteten Organismen. So entstand unter im übrigen gleichen Versuchsbedingungen in Mischkulturen des Bacillus caseï limburgensis + Micrococcus caseï liquefaciens 10mal so viel Ammoniak als in den Reinkulturen der zuletzt genannten Art.

Andererseits können allerdings, wie bereits an einer früheren Stelle betont wurde, Minderungen des Effektes durch antagonistische Wirkungen bedingt sein. Solche scheinen bei den anaeroben Rohkulturen des Blutmehls vorhanden gewesen zu sein; denn hier zersetzten die Reinkulturen ausnahmsweise das stickstoffhaltige Material stärker als die Rohkulturen. Wie gesagt, wird auf beide Möglichkeiten bei weiteren Untersuchungen sorgfältig Rücksicht zu nehmen sein.

---

[1]) Pasteur, Comptes rendus. Acad. des sciences, Paris, **56**, 1863, p. 418—419.

[2]) O. Jensen, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **13**, 1904, p. 703f.

V. Zusammenfassung und Schluß.

Die Hauptergebnisse der vorstehend besprochenen Untersuchungen können in folgende Sätze zusammengefaßt werden:

1. Bei der Ammoniakbildung aus organischen Substanzen sind anaerobe Bakterien in der Regel energischer tätig als aërobe Keime. — Abweichend verhielt sich in dieser Hinsicht bei meinen Versuchen das Hornmehl.

2. Die Umsetzung erfolgte in den mit Erde bezw. mit Dünger eingeleiteten Versuchen mit wechselnder Intensität, und zwar ergab sich für die geprüften Substanzen hinsichtlich ihrer Zersetzlichkeit folgende Rangordnung:

Aerob:	Anaerob:
Fleischmehl	Fleischmehl
Hornmehl	Knochenmehl
Knochenmehl	Wicken
Wicken	Hornmehl
Blutmehl	Blutmehl

Die in den Versuchen mit Blutmehl auffallend schwache Ammoniakbildung hatte ihren Grund jedenfalls in einer abnormen Beschaffenheit des Materials.

3. Aus den verschiedenen Aufschwemmungen wurden folgende Bakterien isoliert:

Aerobe:

Bact. fluorescens (Flügge) L. et N.
„ putidum (Flügge) L. et N.
„ punctatum (Zimmermann) L. et N.
„ radiobacter (Beijerinck) Löhnis.
„ prodigiosum (Ehrenberg) L. et N.
„ erythrogenes (Grotenfelt) L. et N.
„ nubilum (var. non liquef.).
(P. & G. Frankland) L. et N.

Anaerobe:

Streptococcus pyogenes (Rosenbach) L. et N.
Streptococcus pyogenes (var. liquef.).

Die Schimmelpilze waren vertreten durch:
Monilia candida Hansen.

4. Als kräftigste Ammoniakbildner erwiesen sich:

von den aeroben Arten:

Bact. fluorescens (Flügge) L. et N.
„ punctatum (Zimmermann) L. et N.
„ prodigiosum (Ehrenberg) L. et N.

von den anaeroben Arten:

Strept. pyogenes var liquef. (Rosenbach) L. et N.

Die relativ kräftige Stickstoffumsetzung durch anaerob wachsende Streptokokken verdient im Hinblick auf das Vorkommen dieser Form im tierischen Dünger besondere Beachtung.

5. Die von den Reinkulturen gebildeten Ammoniakmengen waren teils geringer, teils ebensogroß, mitunter auch größer als die von den Rohkulturen produzierten Quantitäten. Hierbei können sowohl symbiotische wie antagonistische Prozesse im Spiele gewesen sein; außerdem ist aber hervorzuheben, daß zweifellos bei der Gewinnung von Reinkulturen die besonders kräftig wirksamen, aber der Zahl nach zurückstehenden Arten leicht von den zahlreicheren, weniger wirksamen Formen mehr oder minder vollständig verdrängt werden können.

Anhang:

Tabellen.

I. Ergebnisse der Umsetzungsversuche mit **aeroben Rohkulturen.**

Substanz	Ges. N. in mg	Impf-material	Parallele	NH_3 Stickstoff gebildet	
				in mg	in % d. G. N.
Fleischmehl	61.2	Erde	a	28.56	46.67
			b	28.42	46.44
		Dünger	a	28.42	46.44
			b	28.28	46.21
Knochen-mehl	66.0	Erde	a	22.75	34.47
			b	21.63	32.77
		Dünger	a	29.68	44.97
			b	28.28	42.85
Hornmehl	63.5	Erde	a	24.92	39.24
			b	22.96	36.16
		Dünger	a	26.32	41.45
			b	30.80	48.50
Blutmehl	65.2	Erde	a	4.9	7.52
			b	5.53	8.48
		Dünger	a	8.89	13.63
			b	7.21	11.06
Wicken	69.0	Erde	a	18.9	27.39
			b	19.6	28.41
		Dünger	a	23.38	33.88
			b	23.38	33.88

II. Ergebnisse der Umsetzungsversuche mit **aeroben Reinkulturen**.

Nährsubstrat	Ges. N. in mg	Bakterien: Herkunft	Bakterien: Art	Stamm	Parallele	NH_3-Stickstoff gebildet: in mg	NH_3-Stickstoff gebildet: in % d. G. N.
Fleischmehl	61.2	Erde	Bact. fluorescens	I.	a	2.66	4.35
					b	3.50	5.72
			Bact. nubilum	—	a	2.73	4.46
					b	2.94	4.80
		Dünger	Bact. punctatum	I.	a	27.86	45.52
					b	25.9	42.32
			Bact. fluorescens	II.	a	20.44	33.40
					b	21.56	35.23
			Bact. radiobacter	I.	a	0.84	1.37
					b	0.70	1.14
				II.	a	0.42	0.69
					b	0.49	0.8
				III.	a	0.14	0.23
					b	0.14	0.23
				IV.	a	0.14	0.23
					b	0.42	0.69
Knochenmehl	66.0	Erde	Bact. punctatum	II.	a	20.37	30.86
					b	21.42	32.46
		Dünger	Bact. radiobacter	V.	a	4.69	7.11
					b	4.20	6.36
			„ „	VI.	a	8.96	13.58
					b	9.03	13.68

II. Ergebnisse der Umsetzungsversuche mit **aeroben Reinkulturen.**
(Fortsetzung.)

Nährsubstrat	Ges. N. in mg	Bakterien			Parallele	NH_3-Stickstoff gebildet	
		Herkunft	Art	Stamm		in mg	in % d. N. G.
Hornmehl	63.5	Erde	Bact. putidum	I.	a	3.22	5.07
					b	3.50	5.51
		Dünger	Bact. radiobacter	VII.	a	3.36	5.29
					b	4.34	6.84
Blutmehl	65.2	Erde	Bact. erythrogenes	I.	a	4.34	6.66
					b	4.90	7.52
		Dünger	Bact. radiobacter	VIII.	a	4.48	6.87
					b	4.83	7.41
				IX.	a	4.62	7.09
					b	4.62	7.09
				X.	a	4.2	6.44
					b	4.34	6.66
Wicken	69.0	Erde	Bact. radiobacter	XI.	a	11.2	16.23
					b	11.48	16.64
			Bact. putidum	II.	a	10.78	15.62
					b	10.50	15.22
			Bact. punctatum	III.	a	21.56	31.25
					b	21.77	31.55
			Bact. fluorescens (var.)	III.	a	17.5	25.36
					b	17.08	24.75
			Bact. fluorescens (var.)	IV.	a	18.06	26.17
					b	17.08	24.75

II. Ergebnisse der Umsetzungsversuche mit **aeroben Reinkulturen.**
(Fortsetzung und Schluß.)

Nährsubstrat	Ges. N. in mg	Bakterien			Parallele	NH_3-Stickstoff gebildet	
		Herkunft	Art	Stamm		in mg	in % d. G. N.
Wicken	69.0	Dünger	Monilia candida	—	a	5.75	8.33
					b	8.05	11.67
			Bact. erythrogenes	II.	a	18.06	26.17
					b	18.76	27.19
			Bact. prodigiosum	I.	a	11.08	16.06
					b	11.08	16.06
				II.	a	11.9	17.25
					b	12.88	18.34
				III.	a	13.3	19.28
					b	12.46	18.06
				IV.	a	12.04	17.45
					b	12.95	18.77
			Bact. putidum	III.	a	12.46	18.06
					b	13.16	19.07

III. Ergebnisse der Umsetzungsversuche mit **anaeroben Rohkulturen.**

Substanz	Ges. N. in mg	Impfmaterial	Parallele	NH_3-Stickstoff gebildet	
				in mg	in % der G. N.
Fleischmehl	61.2	Erde	a	40.74	66.57
			b	40.60	66.34
		Dünger	a	40.32	65.88
			b	39.9	65.20
Knochenmehl	66.0	Erde	a	28.18	42.70
			b	28.14	42.64
		Dünger	a	29.68	44.97
			b	28.98	43.91
Hornmehl	63.05	Erde	a	17.5	27.56
			b	15.89	25.02
		Dünger	a	19.88	31.31
			b	17.2	27.09
Blutmehl	65.2	Erde	a	6.72	10.31
			b	6.44	9.88
		Dünger	a	5.32	8.16
			b	4.06	6.23
Wicken	69.0	Erde	a	21.84	31.65
			b	19.6	28.41
		Dünger	a	27.37	39.67
			b	22.61	32.77

IV. Ergebnisse der Umsetzungsversuche mit **anaeroben Reinkulturen.**

Nährsubstrat	Ges. N. in mg	Bakterien			Parallele	NH_3-Stickstoff gebildet	
		Herkunft	Art	Stamm		in mg	in % d. G. N.
Fleischmehl	61.2	Erde	Streptococcus pyogenes	I.	a	15.50	25.33
					b	13.26	21.65
		Dünger		II.	a	14.42	23.56
					b	13.02	21.27
Knochenmehl	66.0	Erde		III.	a	22.47	34.05
					b	21.77	32.99
		Dünger	Strept. pyog. var liquef.	I.	a	30.45	46.14
					b	27.93	42.32
Hornmehl	63.5	Erde	Strept. pyog.	IV.	a	10.85	17.09
					b	8.61	13.56
		Dünger		V.	a	13.16	20.72
					b	11.90	18.74
Blutmehl	65.2	Erde	Strept. pyog. (var liquef.)	II.	a	11.06	16.96
					b	13.16	20.18
		Dünger		III.	a	10.08	15.46
					b	6.3	9.66
Wicken	69.0	Erde	Strept. pyog.	VI.	a	11.79	17.09
					b	11.23	16.28
		Dünger	Strept. pyog. (var liquef.)	IV.	a	7.10	10.29
					b	9.34	13.54

Lebenslauf.

Am 31. August 1877 zu Potsdam geboren, besuchte ich das französische Gymnasium zu Berlin, sowie das Progymnasium zu Groß-Lichterfelde und das Großherzogliche Gymnasium zu Jena i. Th., auf dem ich Ostern 1897 meine Maturitätsprüfung ablegte. Nach zweijähriger landwirtschaftlicher Praxis wurde ich Herbst 1899 in Halle a. d. S. immatrikuliert, siedelte Herbst 1900 nach Göttingen, Ostern 1903 wieder nach Halle über und ließ mich Ostern 1905 exmatrikulieren, um eine Studienreise nach Argentinien zu unternehmen; von dieser Januar 1908 zurückgekehrt ließ ich mich Ostern 1908 in Halle a. d. S. und Herbst 1908 in Leipzig immatrikulieren, um hier mit meinem Doktorexamen meine Studien zu beschließen. Ich bin evangelisch.

Leipzig, den 10. Februar 1910.

Walter Stern.